

09/831720  
PCT/FR 99/02761

REC'D 29 NOV 1999

WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

FR99/2761

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 16 NOV. 1999

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Mak A  
Foldeu

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS Cédex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30





## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales.

26 bis, rue de Saint Petersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Reserve à l'INPI  
**17 NOV 1998**

DATE DE REMISE DES PIÈCES

**98 14387**

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

**31 INPI TOULOUSE**

DÉPARTEMENT DE DÉPÔT

DATE DE DÉPÔT

**17 NOV. 1998**

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

**SANOFI-SYNTHELABO****Josiane MERLIER****Département Brevets****195, Route d'Espagne****31036 TOULOUSE Cedex**

n° du pouvoir permanent

**PG06744**

références du correspondant

**1087D/JM/CVE**

téléphone

**0561162296**

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention☐ demande divisionnaire☐ certificat d'utilité☐ transformation d'une demande  
de brevet européen☐ demande initiale☐ brevet d'invention☐ certificat d'utilité n°

date

Établissement du rapport de recherche

☒ diffère☐ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

Utilisation d'une substance se liant au récepteur périphérique des benzodiazépines dans  
le traitement des stress cutanés.

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

**SANOFI**

Forme juridique

**S. A.**

Nationalité (s)

**FRANCAISE**

Adresse (s) complète (s)

**174, Avenue de France  
75013 PARIS**

Pays

**FRANCE**

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

☐ oui☒ non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

☐ requise pour la 1ère fois☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS

antérieures à la présente demande n°

date

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire)

**Josiane MERLIER**

SIGNATURE DU PREPOSE A LA RECEPTION

SIGNATURE APRES ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE A :

**M.H. METGE**



BREVET D'INVENTI CERTIFICAT D'UTILITE

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

1087D/JM/CVE

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

98 14387

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 Paris Cédex 08

Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

TITRE DE L'INVENTION : Utilisation d'une substance se liant au récepteur périphérique des benzodiazépines dans le traitement des stress cutanés.

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

SANOFI  
174, Avenue de France  
75013 PARIS

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

CASELLAS Pierre  
10, rue Carl Von Linne  
La Colombe  
34090 MONTPELLIER  
FRANCE

DEROCQ Jean-Marie  
6, rue des Clauzes  
34570 Murviel les Montpellier  
FRANCE

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

Le 16 novembre 1998

Josiane MERLIER

La présente invention concerne une composition contenant un ligand des récepteurs périphériques des benzodiazépines pour une utilisation par voie topique.

L'invention concerne l'utilisation d'une substance se liant spécifiquement au récepteur périphérique des benzodiazépines (PBR) pour la fabrication d'une composition pour la prophylaxie ou le traitement des stress cutanés.

L'invention concerne également les compositions contenant ces substances. Ces compositions peuvent être cosmétiques ou pharmaceutiques, en particulier dermatologiques topiques.

Par stress cutané, on entend les différentes situations qui pourraient provoquer des dommages en particulier au niveau de l'épiderme quelque soit l'agent le provoquant. Cet agent peut être interne et/ou externe à l'organisme comme un agent chimique ou radicalaire ou bien externe comme un rayonnement ultraviolet.

La composition selon l'invention est donc destinée à prévenir et à lutter contre les irritations cutanées, les dartres, les érythèmes, les sensations dysesthésiques, les sensations d'échauffement, les prurits de la peau et/ou des muqueuses, le vieillissement et peut aussi être utilisée dans les désordres cutanés tels que, par exemple, le psoriasis, les maladies prurigineuses, l'herpès, les photodermatoses, les dermatites atopiques, les dermatites de contact, les lichens, les prurigos, les prurits, les piqures d'insectes, dans les fibroses et autres troubles de la maturation des collagènes, dans les désordres immunologiques ou encore dans des affections dermatologiques comme l'eczéma.

Le ligand PBR, également appelé "substance", contenu dans la composition peut-être un composé non peptidique, un peptide, un extrait de cellules ou de tissus d'origine animale ou végétale ou un produit obtenu par fermentation d'un micro-organisme, par exemple d'une bactérie ou d'un champignon.

De nombreux ligands PBR sont décrits dans la littérature. On peut citer, à titre d'exemple, le Ro 5-4864 ou chlorodiazépam, le Ro 5-2807 ou diazépam, le PK 11195 ou on pourra se référer à l'article *Peripheral Benzodiazepine Receptors*, Ch. III, J. J. Bourguignon, Ed. E. Giesen - Crouse, Academic Press.

Le PBR est une protéine de 18 KD située sur la membrane externe des mitochondries des tissus périphériques. Il est constitué de cinq domaines transmembranaires et d'une partie carboxyterminale dirigée vers le cytosol. Plusieurs fonctions sont attribuées au PBR selon la nature du tissu considéré : régulation de la stéroïdogénèse, biosynthèse de l'hème, différenciation et croissance cellulaire, contrôle de la respiration mitochondriale (Krueger KE, *Biochimica and Biophysica Acta* 1995, 1241, 453-470). Bien que sa fonction précise n'ait pas encore été complètement

élucidée, plusieurs données expérimentales récentes suggèrent que PBR pourrait jouer un rôle fondamental dans la régulation des processus de mort cellulaire programmée et dans la protection anti-radicalaire.

Il a été montré que PBR est en effet étroitement associé au niveau de la mitochondrie avec des protéines régulatrices de l'apoptose telles que Bcl2 qui prévient la rupture du potentiel de membrane mitochondriale empêchant ainsi l'apoptose induite notamment par la production de radicaux oxygénés réactifs (Marchetti P. *et al*, J. Exp. Med. 1996, 184, 1155-1160) ; (Marchetti P. *et al*, J. Immunol. 1996, 157, 4830-4836).

Dans le cadre de la présente invention, le rôle protecteur anti-radicalaire de PBR a été directement observé sur des cellules d'origine hématopoïétique pour lesquelles une corrélation étroite entre la densité de PBR et la protection anti-radicalaire a été mise en évidence. De plus, dans cette même étude, il a été démontré que la transfection de PBR sur des cellules dépourvues de ce récepteur confère une protection contre les dommages causés par des espèces oxygénées (Carayon P. *et al*, Blood 1996, 87, 3170-3178).

Plusieurs données de la littérature indiquent que PBR jouerait un rôle important dans la régulation des processus apoptotiques et la protection des cellules *vis-à-vis* des dommages causés par les radicaux libres.

Des études phylogéniques récentes renforcent cette nouvelle notion que PBR agit en tant que modulateur d'apoptose impliqué dans des fonctions antioxydantes. Des similarités significatives existent en effet entre PBR et la protéine CrtK de *Rhodobacter sphaeroides*, une bactérie photosynthétique. Cette protéine bactérienne qui fonctionne comme un détecteur d'oxygène photosensible, régule l'expression des gènes impliqués dans la photosynthèse en réponse à des modifications environnementales de la tension en oxygène et de l'intensité lumineuse. La comparaison entre PBR et CrtK révèle une identité de 35 % et une conservation de séquence entre ces deux protéines qui ont divergé dans la phylogénie il y a deux milliards d'années. Cette homologie suggère une fonction hautement spécialisée et conservée de PBR qui semble similaire à celle de CrtK dans la bactérie. En effet, il a été démontré récemment que le PBR de mammifère transfecté chez des mutants *Rhodobacter* CrtK complémente la fonction détecteur d'oxygène de CrTK. Ainsi, cette étude suggère un rôle clé de PBR dans la transduction des signaux dépendant de l'oxygène (Yeliseev AA., *et al*, Proc. Natl. Acad. Sci. 1997, 94, 5101-5106).

Cependant, à ce jour, aucune substance n'a jamais été précisément indiquée comme ligand spécifique des récepteurs PBR cutanés.

A plus forte raison, aucune substance active par voie topique et se liant spécifiquement aux récepteurs PBR n'a jamais été décrite dans la littérature.

Il a été maintenant montré, dans le cadre de la présente invention, que PBR est abondamment exprimé au niveau de la peau sur les différents compartiments cellulaires qui la composent : kératinocytes, cellules de Langerhans, follicules pileux et cellules endothéliales de la vasculature dermique. Au niveau de la peau, l'expression de PBR suit un gradient croissant de la couche basale vers la couche cornée. Cette organisation remarquable qui privilégie les cellules différenciées de l'épiderme les plus exposées aux stress externes revêt sans doute une signification physiologique de première importance pour la protection des zones de l'épiderme les plus vulnérables. Les études subcellulaires réalisées en microscopie confocale indiquent comme attendu une colocalisation de PBR avec Bcl2 au niveau de la mitochondrie. Les études histologiques sur coupe de peau ont permis de mettre en évidence une répartition surprenante de PBR (Figures 1 et 2).

En effet, l'expression de ce récepteur au niveau de l'épiderme suit un gradient de densité croissant des couches basales vers les couches les plus différenciées de kératinocytes. Cette distribution spatiale très organisée qui privilégie en terme de densité les cellules de l'épiderme les plus externes et donc les plus exposées, laisse supposer que PBR au niveau de la peau pourrait représenter un système de protection naturelle contre les radicaux libres générés par l'exposition aux rayonnements ultraviolets. L'observation concomitante que la distribution de la protéine antiapoptotique Bcl2 obéit à un gradient strictement inverse suggère un rôle compensatoire de PBR pour la préservation des cellules les plus différenciées.

L'ensemble de ces données qui suggèrent une fonction protectrice du PBR, plus particulièrement au niveau de l'épiderme, a conduit à la mise en évidence de ligands naturels ou de synthèse montrant que leur interaction avec PBR pouvait être bénéfique dans différentes situations de stress cutané provoqué par des agents chimiques ou radicalaires ou encore consécutifs à une exposition UV.

Ainsi, selon l'un de ses aspects, la présente invention concerne l'utilisation d'un ligand spécifique du PBR, le Ro 5-4864 dans les stress cutanés. Ce ligand est un agoniste du PBR.

Selon un autre aspect de l'invention et sur la base de ces observations, un screening visant à rechercher des ligands naturels de PBR a été entrepris et a permis d'isoler plusieurs fractions capables d'interagir avec ce récepteur. L'effet potentiellement protecteur de ces ligands naturels a ensuite été évalué dans différents tests induisant un stress cutané et notamment des tests d'érythèmes cutanés induits par irradiations

UV. Les propriétés anti-radicalaires ainsi que les capacités de réparation cutanée ont également été recherchées.

Des essais biochimiques et pharmacologiques ont été utilisés pour mettre en évidence l'activité et l'intérêt des substances dans divers stress cutanés.

- 5 Les essais réalisés avec PBR ont pour but de montrer son implication potentielle dans la régulation des processus apoptotiques et la préservation des cellules cutanées vis-à-vis de différents stress délétères.

### EXEMPLE 1

#### 10 Eudes immuno-histologiques de localisation de PBR au niveau cutané

A l'aide de l'anticorps spécifique anti-PBR, Ac 8D7 (mAb de souris anti-PBR, isotype IgG1, Dussossoy *et al.*, Cytometry, 1996, 24:39-48), une analyse par Western Blot a permis de mettre en évidence la présence abondante de PBR sur six lignées différentes de kératinocytes humains ainsi que sur la peau humaine normale (Figure 1). Au niveau subcellulaire, les analyses réalisées en microscopie confocale 15 confirment sur les kératinocytes une colocalisation de PBR au niveau mitochondrial (Figure 2).

Une étude immuno-histologique réalisée sur une coupe d'épiderme humain normal à l'aide du même anticorps révèle un ordonnancement très particulier puisque 20 l'expression de PBR augmente du *stratum basale* vers le *stratum corneum*. Ce récepteur est donc abondamment présent sur les kératinocytes les plus différenciés situés directement sous le *stratum corneum* (Figure 3).

### EXEMPLE 2

#### 25 Etudes de liaison et de spécificité

Les études de liaison ou binding ont été réalisées sur la lignée de kératinocytes A-431 (carcinome épidermoïde humain (ATCC, CRL-1555)) par déplacement du ligand de référence [<sup>3</sup>H]-PK11195. L'analyse de Scatchard indique un seul site de fixation, une 30 densité d'environ 470.000 récepteurs par cellule et une forte affinité du ligand (KD = 1,5 nM) (Figure 4). La spécificité du binding sur le récepteur périphérique porté par les kératinocytes est attestée par les études pharmacologiques qui montrent une efficacité décroissante du déplacement du ligand périphérique de référence (PK 11195) par les ligands suivants :

Ro 5-4864 = (CI<sub>50</sub> ≈ 25 nM) > diazepam (CI<sub>50</sub> ≈ 100 nM) >>> clonazepam (inactif à 35 3200 nM). Il est rappelé que ce dernier est un ligand du récepteur central des



benzodiazépines, le diazepam est mixte, le Ro 5-4864 est spécifique du PBR (Figure 5).

### EXEMPLE 3

#### 5 Implication du PBR dans la protection contre les radicaux oxygénés

Deux types d'expériences sont décrites à la Figure 6. La première a consisté à comparer différentes lignées d'origine lymphoïde ou myéloïde pour leur capacité à résister à la toxicité des radicaux oxygénés en relation avec leur niveau d'expression de PBR. Les résultats indiquent une très forte corrélation entre le nombre de sites PBR  
10 par cellule et la résistance à la toxicité induite par l' $H_2O_2$ . Il existe également une corrélation similaire lorsque l'on considère cette fois le niveau d'expression de Bcl2, protéine connue pour protéger les cellules des dommages oxydatifs. Cette donnée, jointe au fait que Bcl2 et PBR sont deux protéines localisées sur la membrane externe des mitochondries, suggère qu'elles pourraient présenter des fonctions communes  
15 dans la protection cellulaire. De façon intéressante, alors que l'expression de PBR suit un gradient de densité croissant de la couche basale vers la limite de la couche cornée, les données de la littérature indiquent un phénomène inverse pour l'expression de Bcl2, suggérant qu'au cours de la différenciation des kératinocytes, PBR pourrait prendre le "relais" de Bcl2 en ce qui concerne les fonctions de protection anti-  
20 radicalaire.

Dans la deuxième expérience, le rôle possible de PBR dans la protection *vis-à-vis* de la toxicité des radicaux libres est renforcé par la démonstration de la meilleure viabilité, en présence d' $H_2O_2$ , de cellules Jurkat transfectées PBR+ en comparaison avec des cellules homologues PBR-.

25

### EXEMPLE 4

L'activité anti-apoptotique des actifs a été mesurée sur des kératinocytes humains et des fibroblastes (ATCC) qui ont étéensemencés dans des boîtes de Pétri de 35 mm ( $5 \times 10^5$  cellules/puits) dans le DMEM (Dabelco's Mode Eagle Medium) additionné de  
30 10 % de sérum de veau foetal et laisser proliférer jusqu'à confluence. Ce milieu de culture est ensuite aspiré, les cellules sont rincées et 0,1 % de sérum de veau foetal est ajouté en présence d'une solution saline. Des concentrations croissantes de la substance à étudier sont additionnées. Vingt quatre heures plus tard, l'apoptose est mesurée avec une trousse de dosage ELISA (de l'anglais "enzyme-linked  
35 immunosorbent assay").

Des kératinocytes ont été soumis à des rayonnements ultraviolets d type B (UVB) à la

dose de 250J/m<sup>2</sup> pendant 16 heures (J. Invest. Dermatol. 1995, 104 : 922-927). En présence du ligand PBR Ro 5-4864, il a été montré que l'on prévient les processus d'altérations cellulaires induits par l'irradiation dans une gamme de concentrations de ligand comprise entre 10 nM et 10 µM.

5

### EXEMPLE 5

L'effet photoprotecteur du ligand a été évalué par application par voie cutanée sur le cobaye albinos.

La voie topique cutanée est utilisée afin de reproduire les conditions d'utilisation chez l'homme.

Des cobayes Hartley, Charles River France, Saint Aubin lès Elbeuf, 76410 Cléon, France, sont utilisés.

Les animaux ont été rasés puis épilés sur les flancs antérieurs droit et gauche, 24 heures avant le début du traitement.

Les animaux ont été irradiés juste avant le premier traitement. L'énergie est vérifiée avant chaque irradiation réalisée sur les flancs droit et gauche dans le spectre UVB à une dose de 4000 mJ/cm<sup>2</sup>.

Le flanc droit des animaux a été traité avec 0,2 ml de solution du ligand immédiatement après irradiation puis 2 et 5 heures après irradiation. Le flanc gauche ne sera pas traité.

Une lampe à vapeur de Xéron Haute pression (IDEM 300) produira l'irradiation.

Les lectures des réactions locales sont faites avant traitement, puis 5 et 24 heures après irradiation.

Erythème et oedème ont été évalués comme suit :

#### Erythème

0 pas d'érythème ; 1 érythème très faible, à peine perceptible ; 2 érythème net, rose faible ; 3 érythème net, rouge franc ; 4 érythème particulièrement intense

30

#### Oedème

0 pas d'oedème ; 1 très léger oedème (à peine visible) ; 2 léger oedème (contours bien définis et gonflement apparent) ; 3 oedème moyen (épaisseur d'environ 1 mm) ; 4 oedème grave (épaisseur supérieure à 1 mm et surface supérieure à la zone d'application)

35

Dans les compositions selon l'invention, la substance se liant à PBR est utilisée de préférence en une quantité allant de 0,00001 à 20 % en poids par rapport au poids total de la composition, et en particulier en une quantité allant de 0,001 à 10 % en poids par rapport au poids total de la composition.

5 Les compositions selon l'invention peuvent se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées pour une application topique.

Les quantités des différents constituants des compositions selon l'invention sont celles classiquement utilisées dans les domaines considérés et sont appropriées à leur forme galénique.

10 Pour une application topique, les compositions de l'invention comprennent un milieu compatible avec la peau. Ces compositions peuvent se présenter notamment sous forme de solutions aqueuses, alcooliques ou hydroalcooliques, de gels, d'émulsions eau-dans-huile ou huile-dans-eau ayant l'aspect d'une crème ou d'un gel, de  
15 microémulsions, d'aérosols, ou encore sous forme de dispersions vésiculaires contenant des lipides ioniques et/ou non ioniques. Ces formes galéniques sont préparées selon les méthodes usuelles des domaines considérés.

Ces compositions à application topique peuvent constituer notamment une composition de protection, de traitement ou de soin cosmétique ou dermatologique pour le visage, pour le cou, pour les mains ou pour le corps, (par exemple crèmes de  
20 jour, crèmes de nuit, crèmes ou huiles solaires, laits corporels), une composition de maquillage (par exemple fond de teint) ou une composition de bronzage artificiel.

Quand la composition de l'invention est une émulsion, la proportion de corps gras qu'elle contient peut aller de 5 % à 80 % en poids, et de préférence de 5 % à 50 % en poids par rapport au poids total de la composition. Les corps gras et les émulsionnants  
25 utilisés dans la composition sous forme d'émulsion sont choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine cosmétique ou dermatologique.

Comme corps gras utilisables dans l'invention, on peut citer les huiles minérales (vaseline), les huiles végétales (fraction liquide de beurre de karité) et leurs dérivés hydrogénés, les huiles animales, les huiles de synthèse (perhydrosqualène), les huiles  
30 siliconées (diméthylpolysiloxane) et les huiles fluorées. Comme autres corps gras, on peut encore citer les alcools gras (alcool cétylique, alcool stéarylique), les acides gras (acide stéarique) et les cires.

Les émulsionnants peuvent être présents, dans la composition, en une proportion allant de 0,3 % à 30 % en poids et de préférence de 0,5 à 30 % en poids par rapport  
35 au poids total de la composition.

De façon connue, les compositions cosmétiques ou dermatologiques de l'invention peuvent contenir également des adjuvants habituels dans les domaines correspondants, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les charges, les filtres et les matières colorantes. Par ailleurs, ces compositions peuvent contenir des actifs hydrophiles ou lipophiles. Les quantités de ces différents adjuvants ou actifs sont celles classiquement utilisées dans le domaine cosmétique au dermatologique, et par exemple de 0,01 % à 20 % du poids total de la composition. Ces adjuvants ou ces actifs, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse et/ou dans des vésicules lipidiques.

Parmi les actifs que peuvent contenir les compositions de l'invention, on peut notamment citer les actifs ayant un effet sur le traitement des rides ou des ridules, et en particulier les actifs kératolytiques. Par kératolytique, on entend un actif ayant des propriétés desquamantes, exfoliantes ou gommantes, ou un actif capable de ramollir la couche cornée.

Parmi ces actifs ayant un effet sur le traitement des rides ou des ridules que peuvent contenir les compositions de l'invention, on peut en particulier citer les hydroxyacides et les rétinoïdes.

Les hydroxyacides peuvent être par exemple des  $\alpha$ -hydroxyacides ou des  $\beta$ -hydroxyacides, qui peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou insaturés. Les atomes d'hydrogène de la chaîne carbonée peuvent, en outre, être substitués par des halogènes, des radicaux halogénés, alkylés, acylés, acyloxylés, alcoxy carbonylés ou alcoxylés ayant de 2 à 18 atomes de carbone.

Les hydroxyacides qui peuvent être utilisés sont notamment les acides glycolique, lactique, malique, tartrique, citrique; hydroxy-2 alcanoïque, mandélique, salicylique, ainsi que leurs dérivés alkylés comme l'acide n-octanoyl-5-salicylique, l'acide n-dodécanoyl-5-salicylique, l'acide n-décanoyl-5-salicylique, l'acide n-octyl-5-salicylique, l'acide n-heptyloxy-5 ou -4-salicylique, l'acide 2-hydroxy-3-méthylbenzoïque, ou encore leurs dérivés alcoxylés comme l'acide 2-hydroxy-3-méthoxybenzoïque.

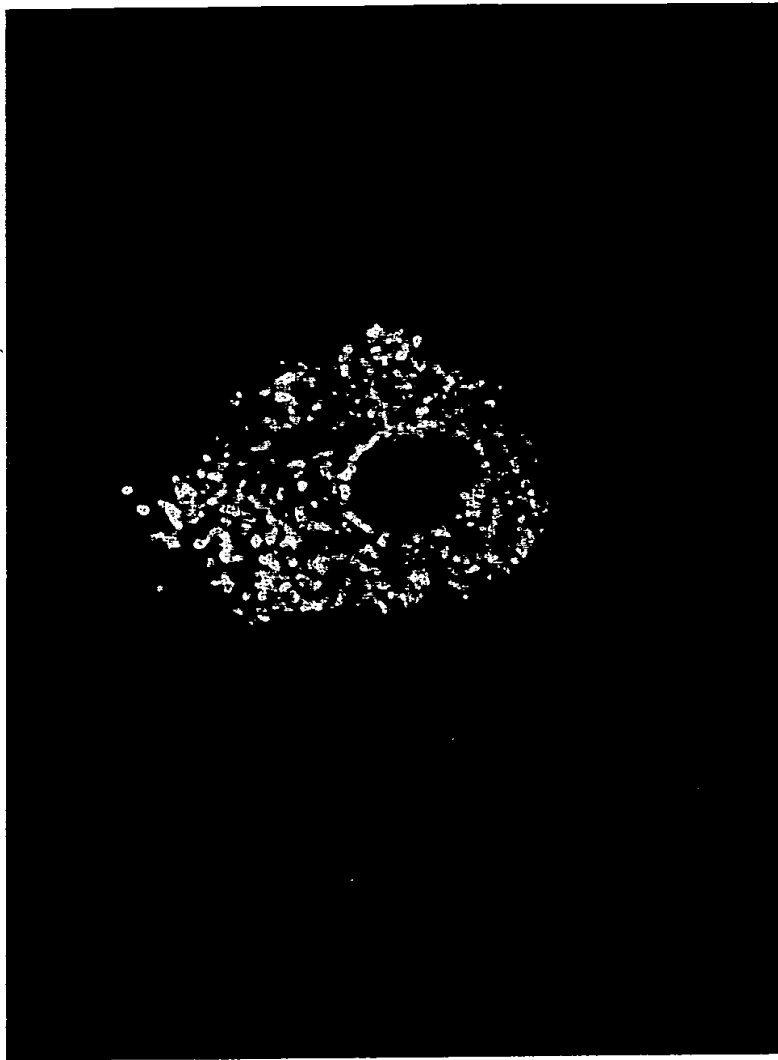
Les rétinoïdes peuvent être notamment l'acide rétinoïque et ses dérivés, le rétinol (vitamine A) et ses esters tels que le palmitate de rétinol, l'acétate de rétinol et le propionate de rétinol, ainsi que leurs sels.

Ces actifs peuvent être utilisés en particulier à des concentrations allant de 0,0001 % à 5 % en poids par rapport au poids total de la composition.

**REVENDEICATIONS**

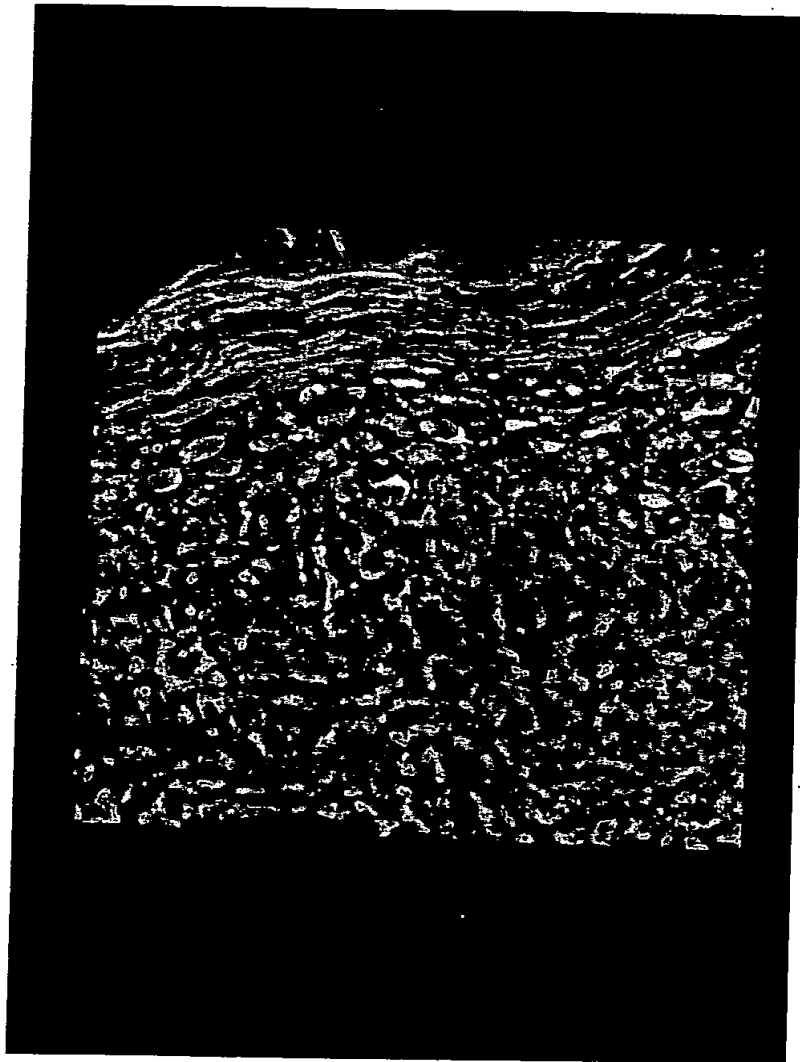
1. Utilisation d'au moins une substance se liant au récepteur périphérique des benzodiazépines ou PBR, pour la fabrication d'une composition cosmétique, pharmacologique ou dermatologique topique dans le traitement du stress cutané.
2. Utilisation d'au moins une substance se liant au PBR pour la fabrication d'une composition cosmétique et/ou dermatologique topique en vue de diminuer les rides, de réduire l'érythème solaire ou de protéger contre les radicaux libres.
3. Utilisation selon l'une des revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que la substance se liant au PBR est un agoniste du PBR choisi parmi les molécules de synthèse, les substances naturelles d'extraction ou une substance obtenue par fermentation.
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce que la substance se liant au PBR est le Ro 5-4864.
5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce que la substance se liant au PBR est une substance obtenue par fermentation.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que la substance est présente dans la composition cosmétique ou dermatologique en une quantité allant de 0,00001 à 20 % en poids par rapport au poids total de la composition.
7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 caractérisée en ce que la substance agoniste est présente dans la composition cosmétique ou dermatologique en une quantité allant de 0,001 à 10 % en poids par rapport au poids total de la composition.
8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que la composition contient en outre un hydroxyacide et/ou un rétinol.
9. Utilisation selon la revendication 8, caractérisée en ce que l'hydroxyacide est choisi parmi les  $\alpha$ -hydroxyacides ou les  $\beta$ -hydroxyacides, qui peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou insaturés.

10. Utilisation selon la revendication 9, caractérisée en ce que le rétinoïde est choisi dans le groupe comprenant l'acide rétinoïque et ses dérivés, le rétinol et ses esters.
- 5
11. Composition cosmétique et/ou dermatologique topique caractérisée en ce qu'elle contient en tant que principe actif une substance se liant au PBR.



Analyse en microscopie confocale à l'aide de l'anticorps 8D7  
de la localisation mitochondriale du récepteur PBR  
sur kératinocytes A431 (coloration verte).

**FIGURE 1**



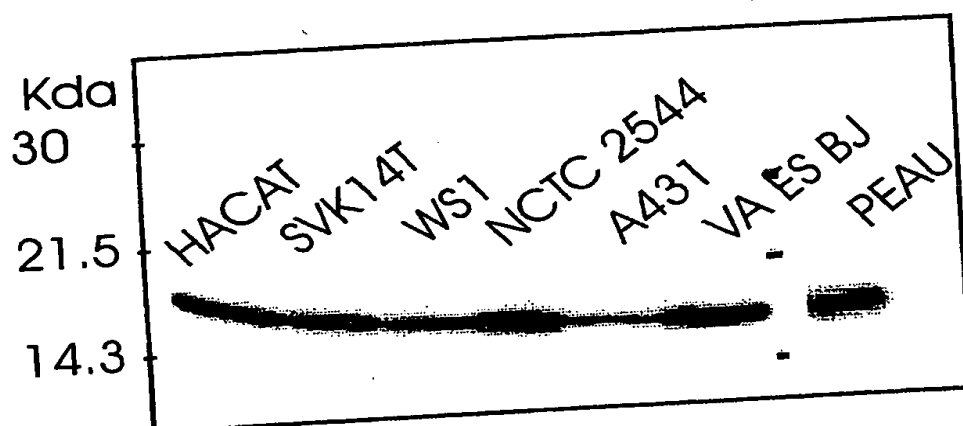
L'analyse immuno-histologique réalisée sur une coupe d'épiderme humain normal révèle une expression croissante de PBR du *stratum basale* vers le *stratum corneum* (coloration rouge).

**FIGURE 2**



Expression de PBR sur des lignées  
de kératinocytes et de peau  
humaine normale :

Analyse par Western Blot

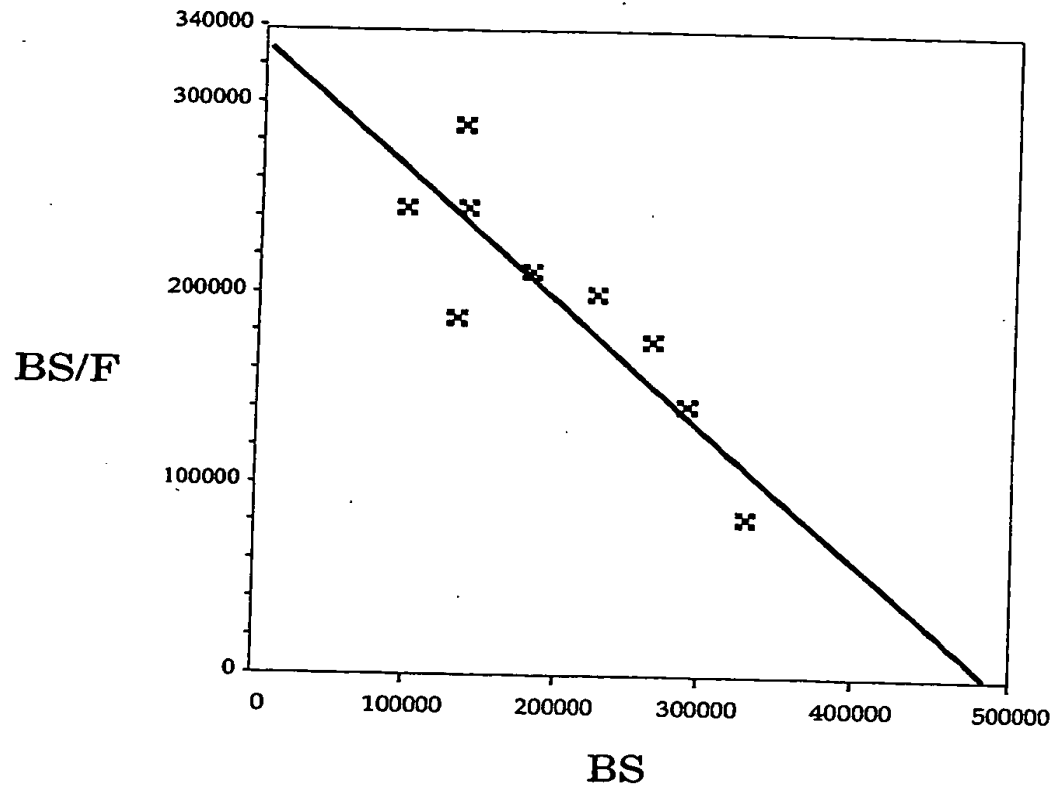


Marquage anticorps 8D7 ( $1\mu\text{g} / \text{ml}$  final)

Les dépôts sont normalisés par dosage des protéines totales en lysat:  
dépôts pour chaque lignée  $30\mu\text{g}$

FIGURE 3

# Etude de Scatchard sur Kératinocytes A431

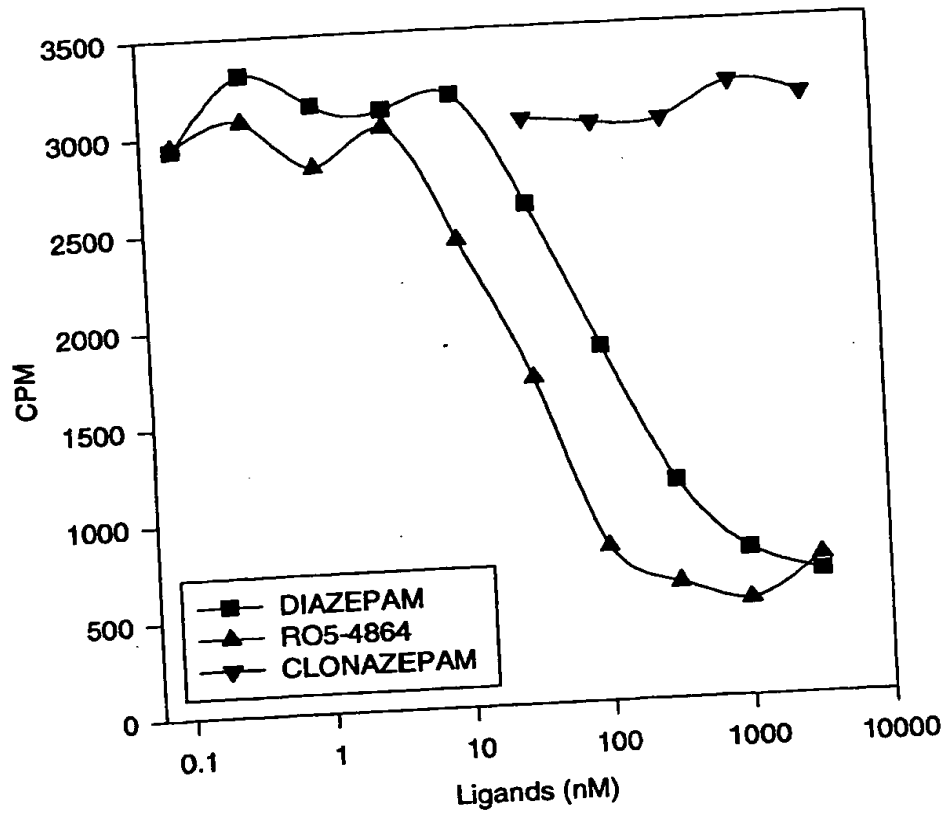


$B_{max} = 472000 \pm 68000$  Récepteurs / Cellule

$KD = 1.5 \pm 0.3$  mM

FIGURE 4

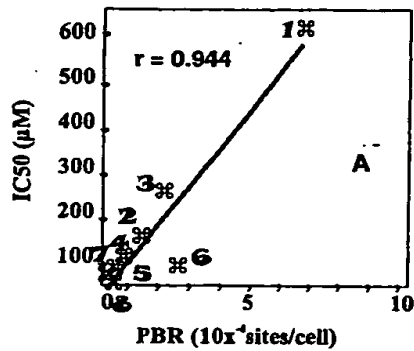
# Profil pharmacologique des ligands du PBR sur Kératinocytes A431



Courbe de déplacement du ligand de référence [3H]-PK11195 par le Ro5-4864 (ligand périphérique) le clonazépam (ligand central) et le diazépam (ligand mixte).

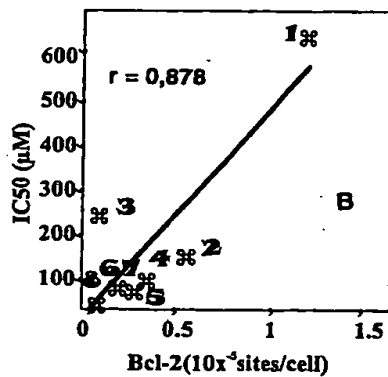
FIGURE 5

# Implication de PBR dans la protection des cellules hématopoïétiques contre les dommages causés par les radicaux oxygénés

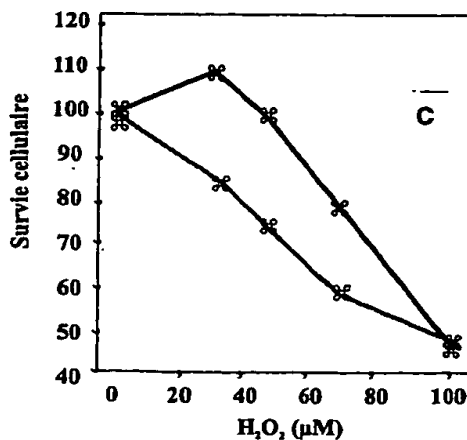


Corrélation entre le niveau d'expression de  
PBR [A] et de Bcl-2 [B] et de la résistance à  
la toxicité de  $H_2O_2$

1 = THP<sub>1</sub>      2 = U937      3 = K562  
4 = IM9      5 = CEM      6 = NALM-6  
7 = JURKAT      8 = RAJI

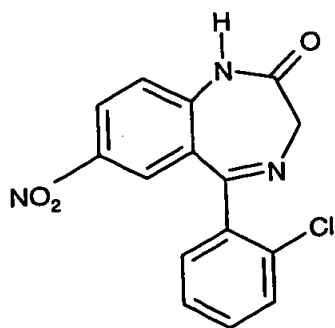


Les concentrations d' $H_2O_2$  induisant 50% de  
toxicité après 24 H d'incubation [ $IC_{50}$ ] sont  
exprimées en fonction du nombre de sites  
PBR ou Bcl-2.

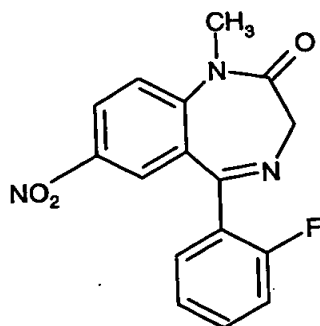


Viabilité des cellules JURKAT sauvages %  
et transfectées avec le PBR x vis à vis de  
la toxicité de  $H_2O_2$  après 24 H d'incubation

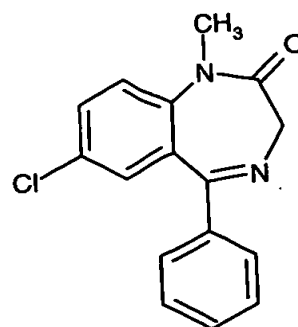
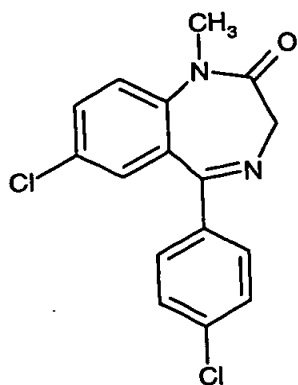
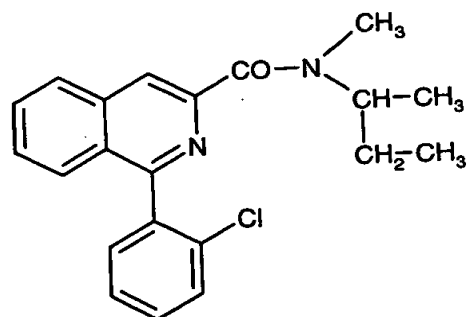
FIGURE 6



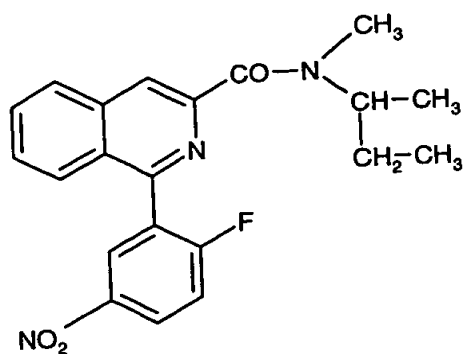
CLONAZEPAM



FLUNITRAZEPAM

DIAZEPAM  
Ro 5-2807CHLORODIAZEPAM  
Ro 5-4864

PK 11195



PK 14105

**Principaux ligands des récepteurs centraux et  
périphériques des benzodiazépines**

FIGURE 7



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100